

(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
PARIS

(11) N° de publication : 2 775 901

(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

(21) N° d'enregistrement national : 98 03155

(51) Int Cl<sup>6</sup> : A 61 K 31/205

(12)

# DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

(22) Date de dépôt : 13.03.98.

(30) Priorité :

(43) Date de mise à la disposition du public de la  
demande : 17.09.99 Bulletin 99/37.

(56) Liste des documents cités dans le rapport de  
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du  
présent fascicule*

(60) Références à d'autres documents nationaux  
apparentés :

(71) Demandeur(s) : LABORATOIRES JACQUES  
LOGEAS Société anonyme — FR.

(72) Inventeur(s) : BOUYSSOU THIERRY, BIOSA  
SERGE, SETTEMBRE PIERRE ANDRE et JEANPETIT  
CHRISTIAN.

(73) Titulaire(s) :

(74) Mandataire(s) : GROSSET FOURNIER ET DEMA-  
CHY SARL.

(54) SELS DE CETOACIDES ET DE DERIVES AMINES, ET LEUR UTILISATION POUR LA PREPARATION DE  
MEDICAMENTS.

(57) L'invention a pour objet l'utilisation des composés de formule générale (I) suivante

(X)<sub>n1</sub>, Y, (Z)<sub>n2</sub>  
dans laquelle :

- n<sub>1</sub> et n<sub>2</sub> représentent 0 ou 1,

- X représente un aminoacide naturel, notamment un  
aminoacide choisi parmi l'ornithine, l'arginine, la lysine, l'his-  
tidine, ou la glutamine,

- Y représente un cétoacide de formule (II) suivante :

R-CO-COOH

dans laquelle R représente -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>, -CH (CH<sub>3</sub>)

2, -CH (CH<sub>3</sub>) -

-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, - (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-COOH, -

(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-COOH,

- Z représente :

- un aminoacide naturel, notamment un aminoacide  
choisi parmi l'ornithine, l'arginine, la lysine, l'histidine, ou la  
glutamine,

- ou, une polyamine choisie notamment parmi la cadavé-  
rine, la putrescine, la spermidine, la spermine ou l'agmatine,  
pour la préparation d'un médicament destiné au traite-  
ment de pathologies humaines ou animales dans lesquelles  
sont impliqués les neurones silencieux. telles que les patho-

logies du tube digestif, de la vessie et des voies biliaires.

FR 2 775 901 - A1



## SELS DE CETOACIDES ET DE DERIVES AMINES, ET LEUR UTILISATION POUR LA PREPARATION DE MEDICAMENTS

---

5 La présente invention a pour objet des sels de cétoacides et de dérivés aminés, ainsi que leur utilisation pour la préparation de compositions pharmaceutiques destinées au traitement de pathologies dans lesquelles sont impliqués les neurones silencieux.

10 Le message nociceptif résulte de l'activation intense des terminaisons libres (nocicepteurs) des fibres C et Aδ qui dans les conditions physiologiques participent à la régulation du fonctionnement des organes. Ces fibres sont contenues dans les tissus cutanés, musculaires, articulaires ainsi que dans la paroi des viscères.

15 Dans le tube digestif ainsi que dans la vessie et les voies biliaires, cette structure nerveuse cohabite avec une population de neurones "silencieux" (Mayer, E.A. ; Gebhart, G.F. ; Gastroenterology, 1994, 107, 271-293) dont l'expression n'apparaît qu'en présence d'une lésion inflammatoire ou nerveuse.

20 Ce mécanisme physiopathologique a inspiré la mise en place du modèle de distension du côlon préalablement irrité à l'acide acétique 1 % chez le rat. Ce modèle est donc représentatif des douleurs d'origine digestive et est utilisé notamment pour la mise en évidence de composés actifs dans le traitement du syndrome de l'intestin irritable (SII). Le SII est caractérisé par la présence de douleurs abdominales. Les patients atteints de cette pathologie présentent un seuil de sensibilité digestive abaissé.

25 La morphine est active sur le modèle de distension colique alors que les analgésiques classiques (AINS, aspirine, paracétamol) sont inactifs sur le test. Ils sont en revanche actifs sur le "writhing test" (modèle de douleur viscérale dans laquelle ne sont pas impliqués les neurones silencieux) qui est réalisé par injection intrapéritonéale de phénylbenzoquinone ou d'acide acétique à 3 % chez le rat ou la souris. La morphine est donc capable de modifier la réactivité des nocicepteurs silencieux, ce que ne peuvent pas faire les AINS.

30 De façon analogue l'ornithine, décrite dans le brevet JP 043 05524 en tant qu'analgésique, est active sur le "writhing test" à 500 et 1 000 mg/kg par voie intraveineuse sur la souris. Elle est également active sur un test de douleur somatique dans laquelle ne sont pas impliqués les neurones silencieux (Kawabata, Atsugumi et coll., Eur. J. Pharmacol., 1996, 296 (1), 23-31), à des doses situées entre 300 et 1 000 mg/kg par voie sous-cutanée sur le rat.

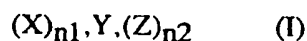
35

Par contre, elle est inactive sur le modèle de distension colique chez le rat à des doses de 1 à 20 mg/kg par voie orale (tableau I). L'ornithine n'est donc pas capable de modifier la réactivité des nocicepteurs silencieux à ces doses.

Par ailleurs, J. Goldhill et coll. (Gastroenterology, Avril 1996, 110 (4), abstract A916) ont montré que la glutamine était active sur le test de distension colique à la dose de 6 mg/kg par voie rectale chez le rat (administration locale sur la muqueuse colique irritée).

Enfin l' $\alpha$ -cétoglutarate de di-ornithine est utilisé en thérapeutique (brevet français n°3 533 M) pour améliorer le métabolisme protéique de sujets dénutris. Il est également connu comme stimulant hormonal (hormone de croissance et insuline) et stimulant de la croissance cellulaire.

La présente invention découle de la découverte faite par les Inventeurs, que des sels de formule générale (I) :



dans laquelle :

X est un acide aminé ;

Y est un cétoacide ;

Z est un acide aminé ou une polyamine,

$n_1$  et  $n_2$  représentent 0 ou 1, sous réserve que lorsque  $n_1 = 0$  alors  $n_2 = 1$ , et que lorsque  $n_2 = 0$  alors  $n_1 = 1$ ,

ont la propriété d'augmenter le seuil de perception de la douleur digestive et par conséquent sont capables de modifier la réactivité des nocicepteurs silencieux à partir de 1 mg/kg par voie orale.

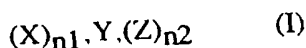
Cette découverte est d'autant plus inattendue que les cétoacides testés séparément sont inactifs. Les amino-acides testés séparément sont également inactifs ou actifs à des doses supérieures (voir tableau I ci-après).

L'activité de ces sels n'est pas due au cétoacide seul ou à l'acide aminé seul, mais à une synergie entre ces deux types de composés.

Ainsi, à titre d'illustration, le tableau I, fait nettement apparaître que :

- les comparateurs 1 et 2 sont inactifs alors que les composés des exemples 1 et 2 (sels entre les comparateurs 1 et 2) sont actifs dès 1 mg/kg ;
- le comparateur 3 est inactif alors que le composé de l'exemple 6 (sel entre les comparateurs 3 et 2) est actif également dès 1 mg/kg ;
- le comparateur 4 est actif à 10 mg/kg alors que le composé de l'exemple 5 (sel entre les comparateurs 1, 2 et 4) est actif dès 1 mg/kg ;
- le comparateur 5 n'est actif qu'à 20 mg/kg alors que les composés des exemples 3 (sels des comparateurs 1 et 5) et 4 (sels des comparateurs 1, 2 et 5) sont actifs dès 10 mg/kg.

La présente invention a pour objet l'utilisation de composés de formule générale (I) suivante :



dans laquelle :

-  $n_1$  et  $n_2$  représentent 0 ou 1, sous réserve que lorsque  $n_1 = 0$  alors  $n_2 = 1$ , et que lorsque  $n_2 = 0$  alors  $n_1 = 1$ ,

- X représente un aminoacide naturel, sous réserve que lorsque  $n_2 = 0$  alors X représente un aminoacide basique tel que :

- l'ornithine,
- l'arginine,
- la lysine,
- ou, l'histidine,

- Y représente un cétoacide de formule (II) suivante :



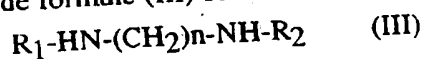
dans laquelle R représente un groupe alkyle ou acide alcanoïque, substitué ou non, d'environ 1 à environ 10 atomes de carbone, notamment un cétoacide de formule (II) dans laquelle lorsque R représente :

- $-CH_3$ , ledit cétoacide est l'acide pyruvique,
- $-CH_2-CH_3$ , ledit cétoacide est l'acide  $\alpha$ -cétobutyrique,
- $-CH(CH_3)_2$ , ledit cétoacide est l'acide  $\alpha$ -cétisovalérique,
- $-CH(CH_3)-CH_2-CH_3$ , ledit cétoacide est l'acide  $\alpha$ -ceto  $\beta$ -méthylvalérique,
- $-CH_2-CH(CH_3)_2$ , ledit cétoacide est l'acide  $\alpha$ -cétosocaproïque,
- $-(CH_2)_2-COOH$ , ledit cétoacide est l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique,
- $-(CH_2)_3-COOH$ , ledit cétoacide est l'acide  $\alpha$ -cétoadipique,

- Z représente :

• un aminoacide naturel, notamment un aminoacide choisi parmi l'ornithine, l'arginine, la lysine, l'histidine, ou la glutamine,

• ou, une polyamine comprenant au moins deux fonctions amines primaires, secondaires ou tertiaires, espacée par une chaîne hydrocarbonée linéaire ou ramifiée d'environ 3 à 10 atomes de carbone, notamment une polyamine de formule (III) suivante :



dans laquelle :

n représente un nombre entier compris entre 4 et 5, et

\* lorsque  $n = 4$ ,

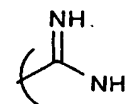
..  $R_1$  et  $R_2$  représentent H,

.. ou,  $R_1$  représente H et  $R_2$  représente  $(CH_2)_3NH_2$ .

.. ou,  $R_1$  et  $R_2$  représentent  $(CH_2)_3NH_2$ .

\* lorsque  $n = 5$ .

..  $R_1$  et  $R_2$  représentent H,



.. ou,  $R_1$  représente H et  $R_2$  représente un groupe de formule  
notamment une polyamine choisie parmi la cadavérine, la putrescine, la  
spermidine, la spermine ou l'agmatine,

pour la préparation d'un médicament destiné au traitement de pathologies  
humaines ou animales dans lesquelles sont impliqués les neurones silencieux,  
telles que les pathologies du tube digestif, de la vessie et des voies biliaires.

Il est bien entendu que les composés de formule (I) susmentionnée  
résultent de la formation de liaisons ioniques principalement, et en aucun cas de  
liaisons covalentes, entre les différents constituants X, Y ou Z. Par conséquent,  
l'ordre d'apparition de ces différents constituants dans la formule (I) n'a pas de  
signification particulière, et cette formule (I) doit être comprise comme  
comprenant aussi bien les composés de formule  $(X)_{n1}.Y.(Z)_{n2}$ , que ceux de  
formule  $(Z)_{n2}.Y.(X)_{n1}$ ;  $(X)_{n1}.(Z)_{n2}.Y$ ;  $(Z)_{n2}.(X)_{n1}.Y$ ;  $Y.(X)_{n1}.(Z)_{n2}$ ;  
 $Y.(Z)_{n2}.(X)_{n1}$ .

L'invention a plus particulièrement pour objet l'utilisation susmentionnée,  
de composés de formule (I) dans laquelle :

-  $n_1 = 1$ , et  $n_2 = 0$  ou 1,

- X représente un acide aminé choisi parmi l'ornithine, l'arginine ou la  
glutamine,

- Y représente un cétoacide choisi parmi l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique, ou  
l'acide  $\alpha$ -cétobutyrique,

- et, lorsque  $n_2 = 1$ , Z représente :

. un acide aminé naturel, notamment l'ornithine, l'arginine ou la  
glutamine,

. ou une polyamine de formule (III) susmentionnée, telle que la  
cadavérine, la putrescine, la spermidine, la spermine ou l'agmatine.

Des composés de formule (I) dans laquelle  $n_1 = 1$ , et  $n_2 = 0$ ,  
particulièrement préférés pour leur utilisation dans le cadre de la présente  
invention, sont ceux pour lesquels :

- X représente l'ornithine et Y représente l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique, à  
savoir l' $\alpha$ -cétoglutarate de mono-ornithine,

- X représente l'ornithine et Y représente l'acide  $\alpha$ -cétobutyrique, à savoir  
l' $\alpha$ -cétobutyrate de mono-ornithine.

Des composés de formule (I) dans laquelle  $n_1 = 1$ , et  $n_2 = 1$ , particulièrement préférés pour leur utilisation dans le cadre de la présente invention, sont ceux pour lesquels :

- X représente l'ornithine, Y représente l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique, et Z représente l'ornithine, à savoir l' $\alpha$ -cétoglutarate de di-ornithine,

- X représente l'arginine, Y représente l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique, et Z représente l'arginine, à savoir l' $\alpha$ -cétoglutarate de di-arginine,

- X représente l'ornithine, Y représente l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique, et Z représente la glutamine, à savoir l' $\alpha$ -cétoglutarate d'ornithine et de glutamine,

- X représente l'ornithine, Y représente l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique, et Z représente la spermidine, à savoir l' $\alpha$ -cétoglutarate d'ornithine et de spermidine.

De préférence, le composé utilisé dans le cadre de la présente invention est l' $\alpha$ -cétoglutarate de di-ornithine.

L'invention a plus particulièrement pour objet l'utilisation susmentionnée, de composés de formule (I) dans laquelle :

-  $n_1 = 0$  ou  $1$ , et  $n_2 = 1$ ,

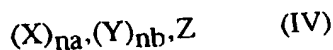
- lorsque  $n_1 = 1$ , X représente un aminoacide naturel, tel que l'ornithine, l'arginine ou la glutamine,

- Y représente un cétoacide choisi parmi l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique, ou l'acide  $\alpha$ -cétobutyrique,

- Z représente une polyamine de formule (III) susmentionnée, telle que la cadavérine, la putrescine, la spermidine, la spermine ou l'agmatine.

Un composé de formule (I) dans laquelle  $n_1 = 0$ , et  $n_2 = 1$ , particulièrement préféré pour son utilisation dans le cadre de la présente invention, est celui pour lequel Y représente l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique et Z représente la spermidine, à savoir l' $\alpha$ -cétoglutarate de spermidine.

L'invention a également pour objet les composés de formule générale (IV) suivante :



dans laquelle :

-  $n_a$  et  $n_b$  représentent 0 ou 1, sous réserve que lorsque  $n_a = 0$  alors  $n_b = 1$ , et que lorsque  $n_b = 0$  alors  $n_a = 1$ ,

- X représente un aminoacide naturel, notamment un aminoacide basique tel que l'ornithine, l'arginine, la lysine, ou l'histidine,

- Y représente un cétoacide de formule (II) susmentionnée,

- Z représente une polyamine comprenant au moins deux fonctions amines primaires, secondaires ou tertiaires, espacée par une chaîne hydrocarbonée linéaire ou ramifiée d'environ 3 à 10 atomes de carbone.

notamment une polyamine de formule (III) susmentionnée, telle que la cadavérine, la putrescine, la spermidine, la spermine ou l'agmatine.

L'invention a plus particulièrement pour objet le composé de formule générale (IV) dans laquelle  $n_a = 0$  et  $n_b = 1$ , Y représente l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique, et Z représente la spermidine, et correspondant au composé de formule (I) dans laquelle  $n_1 = 0$ , et  $n_2 = 1$ , Y représente l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique et Z représente la spermidine, à savoir l' $\alpha$ -cétoglutarate de spermidine.

Avantageusement, les composés tels que décrits ci-dessus se présentent sous forme de sels entre deux constituants X et Y, ou Y et Z, ou entre les trois constituants X, Y et Z.

La proportion en poids des différents constituants est de préférence comprise entre 0,8 et 1,2, de sorte que la somme des proportions de chacun des constituants est égale à 2 dans un sel entre deux constituants X et Y, ou Y et Z, ou est égale à 3 dans un sel entre trois constituants X, Y et Z.

Avantageusement, la proportion susmentionnée des différents constituants est comprise entre 0,9 et 1,1.

Des composés particulièrement préférés sont ceux au sein desquels les différents constituants X et Y, ou Y et Z, ou X, Y et Z, sont dans un rapport équimolaire, c'est-à-dire que chacun des constituants est dans une proportion en poids de 1, de sorte que la somme des proportions de chacun des constituants est égale à 2 dans un sel entre deux constituants X et Y, ou Y et Z, ou est égale à 3 dans un sel entre les trois constituants X, Y et Z..

L'invention a également pour objet toute composition pharmaceutique comprenant, à titre de principe actif, un composé de formule (I) décrite ci-dessus, en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

L'invention concerne également toute composition pharmaceutique comprenant, à titre de principe actif, une polyamine de formule (III) décrite ci-dessus, et plus particulièrement la cadavérine, la putrescine, la spermidine, la spermine ou l'agmatine, ou un composé de formule (IV) susmentionnée, en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

Les compositions pharmaceutiques selon l'invention se présentent sous une forme administrable par voie orale, parentérale, ou rectale.

De préférence, les compositions pharmaceutiques selon l'invention sont caractérisées en ce que la posologie en principe actif est d'environ 0,1 à 50 mg/kg/jour, de préférence 1 à 20 mg/kg/jour par voies orale et rectale, et d'environ 1  $\mu$ g/kg/jour à 10 mg/kg/jour par voie parentérale.

Des compositions pharmaceutiques préférées selon l'invention se présentent sous une forme administrable par voie orale, en dose unitaire de

1 mg à 5 g de principe actif par prise et de préférence de 10 mg à 1 g à raison de 1 à 4 prises par jour. Des compositions également préférées selon l'invention se présentent sous une forme administrable par voie parentérale en dose unitaire de 50  $\mu$ g à 500 mg de principe actif à raison de 1 à 2 injections par jour.

5 L'invention a plus particulièrement pour objet l'utilisation d'un ou plusieurs composés de formule (I) décrits ci-dessus pour la préparation d'un médicament destiné au traitement de pathologies humaines ou animales dans lesquelles sont impliqués les neurones silencieux, et plus particulièrement au traitement symptomatique des douleurs associées à ces pathologies.

10 L'invention a également pour objet l'utilisation des polyamines de formule (III) décrite ci-dessus, et plus particulièrement de la cadavérine, la putrescine, la spermidine, la spermine ou l'agmatine, ou l'utilisation des composés de formule (IV) susmentionnée, pour la préparation d'un médicament destiné au traitement des pathologies citées ci-dessus.

15 Parmi, les pathologies humaines ou animales susmentionnées dans lesquelles sont impliqués les neurones silencieux, susceptibles d'être traitées dans le cadre de la présente invention, on peut citer principalement les pathologies du tube digestif, de la vessie et des voies biliaires, et plus particulièrement les douleurs associées à ces pathologies, dont notamment les douleurs :

20 • des troubles du transit et de l'inconfort intestinal liés aux troubles fonctionnels intestinaux (dyspepsies, syndrome de l'intestin irritable, côlon irritable ...)

- 25 • des voies biliaires
- dans la rectocolite hémorragique
  - dans la maladie de Crohn
  - dans l'ulcère gastrique et duodénal
  - dans la gastrite chronique
  - dans le cancer colorectal ou gastrique
  - dans la gastroentéroentérite et la grippe intestinale
  - liées à une pseudo-obstruction intestinale ou colique
  - dans l'iléite radique
  - post-opératoires digestives ou viscérales
  - dans la diarrhée, spasmes, constipations, le mégacôlon, le mégarectum
  - des spasmes de la vessie
  - de la parésie vésicale.
- 35

Les composés selon l'invention peuvent être préparés par dissolution des différents constituants sous forme de base dans l'eau. Le sel ainsi obtenu en solution dans l'eau est ensuite précipité au moyen d'un solvant miscible à l'eau



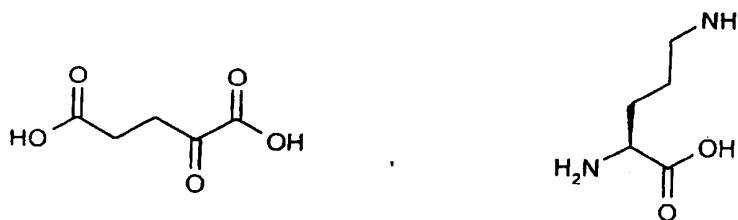
tel qu'un alcool (méthanol, éthanol, isopropanol) ou de l'acétone ou de l'acétonitrile puis collecté par filtration. La solution aqueuse peut être également lyophilisée.

Le solide obtenu dans tous les cas peut être purifié par brassage dans un solvant tel que l'éther diéthylique ou l'acétonitrile.

L'invention sera davantage illustrée à l'aide de la description détaillée qui suit de la préparation de composés de l'invention, et de leurs propriétés analgésiques mesurées sur un modèle de distension colique.

## I PROCEDES DE PREPARATION

### - Exemple 1 : cétooglutarate de mono-ornithine



A une solution d'ornithine base dans 200 ml d'eau (1,1 N dans  $H_2O$ , 20 mmoles, 18,2 ml), ajouter l'acide  $\alpha$ -cétooglutarique (2,92 g ; 20 mmoles). Congeler la solution et lyophiliser une nuit. Homogénéiser au mortier.

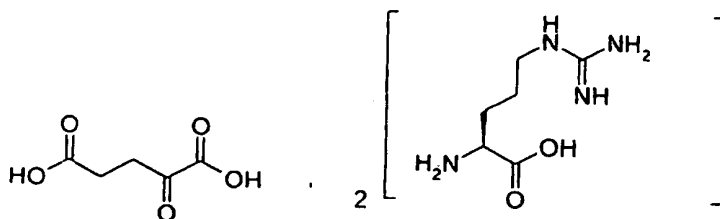
On récupère 4,71 g (85 %) d'une poudre blanche.

RMN ( $D_2O$ ) : 8,3,75 (t, 1H,  $CH(NH_2)CO_2H$ ) ; 3,1-2,9 (m, 4H,  $CH_2NH_2$  et  $CH_2COCO_2H$ ) ; 2,7 (t, 2H,  $CH_2CO_2H$ ) ; 2-1,6 (m, 4H,  $CH-CH_2-CH_2$ )

### - Exemple 2 : cétooglutarate de di-ornithine

Synthétisé de la même manière que dans le brevet 3533 M.

### - Exemple 3 : cétooglutarate de di-arginine



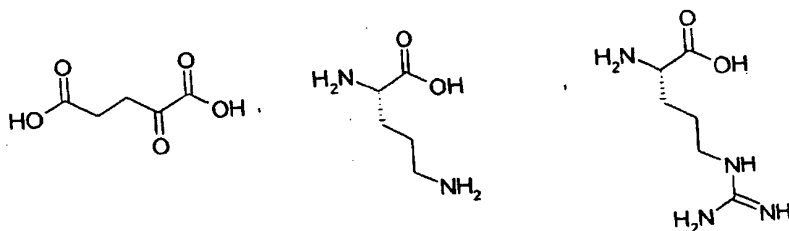
A une solution de L-arginine (10,45 g ; 60 mmoles) dans 500 ml d'eau, ajouter l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique (4,38 g ; 30 mmoles). Congeler la solution et lyophiliser.

On obtient un mélange sous forme de mousse et de gomme. Prélever la mousse, broyer et tamiser.

On récupère 9,26 g (62 %) de poudre blanche.

RMN ( $D_2O$ ) : 83,75 (t, 1H,  $CH(NH_2)CO_2H$ ) ; 3,25 (t, 2H,  $-CH_2NH$ ) ; 3 (t, 1H,  $CH_2COCO_2H$ ) ; 2,45 (t, 1H,  $CH_2CO_2H$ ) ; 1,9 (m, 2H,  $CH_2CH$ ) ; 1,65 (m, 2H,  $CH_2CH_2NH$ )

#### - Exemple 4 : cétoglutarate d'ornithine et d'arginine

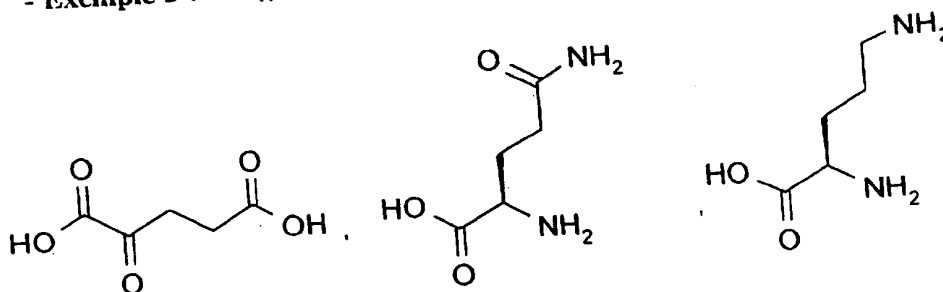


A une solution d'ornithine base (1,1 N dans  $H_2O$  ; 9,1 ml. 10 mmoles) ajouter l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique (1,46 g, 10 mmoles) puis la L-arginine (1,74 g. 10 mmoles). Additionner 100 ml de méthanol, on obtient une gomme qui est filtrée et reprise dans 100 ml d'éther éthylique filtrée et cristallisée dans 100 ml d'acétonitrile.

Filtrer. on récupère 1,53 g d'une poudre jaune (34 %).

RMN ( $D_2O$ ) : 83,75 (m, 2H,  $CH(NH_2)CO_2H$  ornithine et arginine) ; 3,2 (t, 2H,  $CH_2NH$ ) ; 3 (m, 4H,  $CH_2NH_2$  et  $CH_2COCO_2H$ ) ; 2,5 (t, 2H,  $CH_2CO_2H$ ) ; 2-1,5 (m, 8H,  $CH_2CH$  ornithine et arginine,  $CH_2CH_2NH_2$ ,  $CH_2CH_2NH$ )

#### - Exemple 5 : cétoglutarate d'ornithine et de glutamine



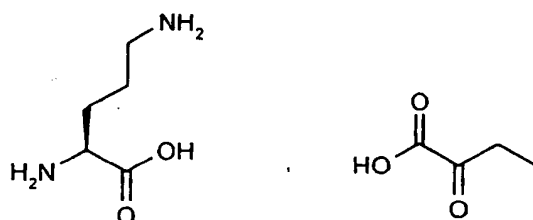
Dissoudre la glutamine (58,4 g, 0,4 moles) et l'acide  $\alpha$ -cétooglutarique (58,4 g, 0,4 moles) dans 300 ml d'eau. Ajouter une solution d'ornithine à 40 % (117 ml, 0,4 moles). Additionner 500 ml d'éthanol puis placer cette solution à -18°C pour compléter la cristallisation.

5 Filtrer, laver à l'acétone et sécher sous vide.

On obtient 155 g d'un solide blanc (95 %).

10 RMN ( $D_2O$ ) :  $\delta$ 3,75 (m, 2H,  $CH(NH_2)CO_2H$  ornithine et glutamine) ; 3 (m, 3,5H,  $CH_2NH_2$  et 1,5  $CH_2COCO_2H$ ) ; 2,7 (t, 2H,  $CH_2CO_2H$ ) ; 2,5 (m, 2,5H,  $CH_2CONH_2$  et 0,5  $CH_2CO_2H$  forme hydrate) ; 2,15 (m, 2,5H,  $CH_2CH$  glutamine et 0,5  $CH_2C(OH)_2CO_2H$ ) ; 1,9 (m, 2H,  $CH_2CH$  ornithine) ; 1,8 (m, 2H,  $CH_2CH_2NH_2$ ).

### - Exemple 6 : cétobutyrate de mono-ornithine



15

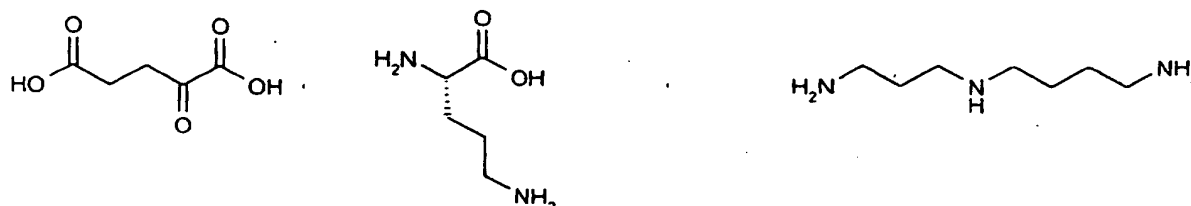
A une solution d'ornithine (1,1 N dans  $H_2O$ , 9,1 ml, 10 mmoles) ajouter l'acide  $\alpha$ -cétooglutarique (1,02 g, 10 mmoles). Ajouter 190 ml d'acétone, glacer, filtrer, rincer à l'acétone et sécher sous vide.

On obtient 1,07 g d'un solide blanc (46 %).

20 RMN ( $D_2O$ ) :  $\delta$ 3,75 (t, 1H,  $CH(NH_2)CO_2H$ ) ; 3 (t, 2H,  $CH_2NH_2$ ) ; 2,75 (q, 1,5H,  $CH_2CH_3$ ) ; 1,9-1,7 (m, 4,5H,  $CH_2CH$  et  $CH_2CH_2CH$  et 0,5  $CH_2CH_3$  forme hydrate) ; 1,1 (t, 2,5H,  $CH_3CH_2$ ) ; 0,8 (t, 0,5H,  $CH_3CH_2$  forme hydrate).

25

### - Exemple 7 : cétooglutarate d'ornithine de spermidine

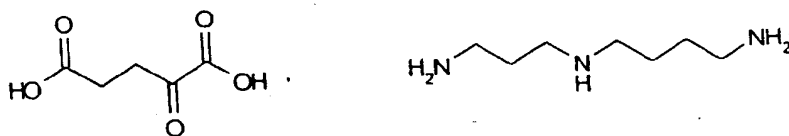


A une solution de L-ornithine base (1,1 N dans H<sub>2</sub>O, 9,1 ml, 10 mmoles) ajouter l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique (1,46 g, 10 mmoles) puis la spermidine (1,45 g, 10 mmoles).

Additionner 100 ml de méthanol et 100 ml d'éther éthylique. On obtient une gomme qui est filtrée et reprise dans l'acétonitrile. On récupère 0,9 g d'un solide jaune pâle (27 %).

RMN (D<sub>2</sub>O) :  $\delta$ 6,7 (m, 0,3H, CHCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H forme énol) ; 3,6 (t, 1H, CH(NH<sub>2</sub>)CO<sub>2</sub>H) ; 3 (m, 10H, CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> ornithine, CH<sub>2</sub>COCO<sub>2</sub>H, 4CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> et 4CH<sub>2</sub>NH spermidine) ; 2,4 (m, 0,35H, CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H) ; 2,2 (m, 0,75, CH<sub>2</sub>C(OH)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H) ; 2-1,6(m, 11H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH, CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H).

#### - Exemple 8 : cétoglutarate de spermidine



Synthétisé de façon extemporanée en mélangeant 116,3 mg (0,8 mmole) de spermidine à 117 mg (0,8 mmole) d'acide  $\alpha$ -cétoglutarique dans 50 ml d'eau, ce qui conduit à une solution à 0,16 M.

## II PHARMACOLOGIE

### - Distension colique

L'activité analgésique a été étudiée sur un modèle de douleur digestive chez le rat vigile. Cette douleur est provoquée par la distension du côlon à l'aide d'un ballonnet.

### - Protocole

Les rats mâles Sprague-Dawley d'environ 180 g à jeun depuis la veille sont utilisés. Sous légère anesthésie au fluothane, une sonde intrarectale est introduite à 5 cm de l'anus et 1,5 ml d'acide acétique à 1 % est injecté. Une heure trente après l'irritation, un ballonnet en latex ( $\varnothing$  à vide 2 mm, longueur 1

cm) monté sur un cathéter en polyéthylène est introduit dans le côlon sur le site de l'irritation.

Le produit à tester ou le véhicule (eau distillée) est administré per os sous un volume de 1 ml, puis le rat est mis en observation dans un cristalliseur.

5 La distension du côlon est réalisée 2h30 après l'irritation. Elle est effectuée sous un volume fixe égale à 1,5 ml d'eau distillée. La distension colique provoque une douleur digestive objectivée par des crampes abdominales dont le nombre reflète l'intensité de la douleur. La distension colique est maintenue pendant 10 minutes au cours desquelles les crampes abdominales sont

10

L'analyse statistique est effectuée à l'aide du test de Dunnett qui compare un même groupe d'animaux véhicule (40) à plusieurs groupes de rats (6 animaux par groupe) ayant reçu les molécules étudiées. Le seuil de signification est fixé à 5 %.

15

Les molécules sont testées par voie orale à 1-10-20 mg/kg. Elles sont solubilisées dans de l'eau distillée.

Le véhicule utilisé comme placebo se compose d'eau distillée.

20 Les comparateurs 1 à 5 sont des produits disponibles dans le commerce et sont utilisés tels que, sauf le chlorhydrate d'ornithine qui est relargué par des méthodes connues dans la littérature et stockée en solution dans l'eau.

### - Résultats

25 Vingt à vingt deux crampes abdominales, en moyenne, sont observées pendant les 10 minutes de distension colique chez le groupe de rats véhicule (n = 40 rats).

Les molécules testées diminuent significativement ( $p < 0,05$ ) la douleur digestive lorsque le nombre de crampes abdominales est inférieur ou égal à 15.

30 Les résultats des composés selon l'invention sont donnés ci-après (tableau I).

Les composés selon l'invention diminuent significativement la douleur digestive.

35

5

TABLEAU I

Distension colique chez le rat à 1, 10 et 20 mg/kg p.o.  
(nombre moyen de crampes abdominales  $\pm$  écart-type)

COMPOSE	PLACEBO (véhicule)	1 mg/kg	10 mg/kg	20 mg/kg
Acide $\alpha$ -cétoglutarique Comparateur 1	21 $\pm$ 2	17 $\pm$ 1	17 $\pm$ 4	22 $\pm$ 6
Ornithine, HCl Comparateur 2	22 $\pm$ 4	20 $\pm$ 3	19 $\pm$ 6	18 $\pm$ 6
Acide $\alpha$ -cétobutyrique Comparateur 3	21 $\pm$ 1	19 $\pm$ 2	20 $\pm$ 3	19 $\pm$ 3
Glutamine Comparateur 4	23 $\pm$ 5	21 $\pm$ 2	13* $\pm$ 4	8* $\pm$ 3
Arginine Comparateur 5	20 $\pm$ 1	20 $\pm$ 6	20 $\pm$ 9	13* $\pm$ 6

10 \* Statistiquement différent du placebo à  $p < 0,05$  (test de Dunnett)

TABLEAU I (suite)

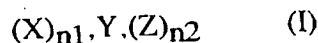
COMPOSE	PLACEBO (véhicule)	1 mg/kg	10 mg/kg	20 mg/kg
Cétoglutarate de mono- ornithine Exemple 1	20 ± 2	11* ± 7	11* ± 9	15* ± 7
Cétoglutarate de di- ornithine Exemple 2	23 ± 5	14* ± 2	9* ± 4	8* ± 3
Cétoglutarate de di- arginine Exemple 3	26 ± 9	17 ± 9	12* ± 4	10* ± 5
Cétoglutarate d'ornithine d'arginine Exemple 4	19 ± 1	18 ± 2	14* ± 9	13* ± 5
Cétoglutarate d'ornithine de glutamine Exemple 5	23 ± 5	11* ± 4	12* ± 5	11* ± 6
Cétobutyrate d'ornithine Exemple 6	22 ± 1	12* ± 5	14* ± 7	8* ± 3
Cétoglutarate d'ornithine de spermidine Exemple 7	21 ± 2	13* ± 2	14* ± 3	9* ± 4
Cétoglutarate de spermidine Exemple 8	18 ± 0,7	8* ± 4	9* ± 4	8* ± 2

5

\* Statistiquement différent du placebo à p &lt; 0,05 (test de Dunnett)

## REVENDICATIONS

1. Utilisation de composés de formule générale (I) suivante :



dans laquelle :

-  $n_1$  et  $n_2$  représentent 0 ou 1, sous réserve que lorsque  $n_1 = 0$  alors  $n_2 = 1$ , et que lorsque  $n_2 = 0$  alors  $n_1 = 1$ .

- X représente un aminoacide naturel, sous réserve que lorsque  $n_2 = 0$  alors X représente un aminoacide basique tel que :

- l'ornithine,
- l'arginine,
- la lysine,
- ou, l'histidine,

- Y représente un cétoacide de formule (II) suivante :



dans laquelle R représente un groupe alkyle ou acide alcanoïque, substitué ou non, d'environ 1 à environ 10 atomes de carbone, notamment un cétoacide de formule (II) dans laquelle lorsque R représente :

- $-CH_3$ , ledit cétoacide est l'acide pyruvique,
- $-CH_2-CH_3$ , ledit cétoacide est l'acide  $\alpha$ -cétobutyrique,
- $-CH(CH_3)_2$ , ledit cétoacide est l'acide  $\alpha$ -cétoisovalérique.
- $-CH(CH_3)-CH_2-CH_3$ , ledit cétoacide est l'acide  $\alpha$ -ceto  $\beta$ -méthylvalérique,
- $-CH_2-CH(CH_3)_2$ , ledit cétoacide est l'acide  $\alpha$ -cétoisocaproïque,
- $-(CH_2)_2-COOH$ , ledit cétoacide est l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique,
- $-(CH_2)_3-COOH$ , ledit cétoacide est l'acide  $\alpha$ -cétoadipique,

- Z représente :

- un aminoacide naturel, notamment un aminoacide choisi parmi l'ornithine, l'arginine, la lysine, l'histidine, ou la glutamine,
- ou, une polyamine comprenant au moins deux fonctions amines primaires, secondaires ou tertiaires, espacée par une chaîne hydrocarbonée linéaire ou ramifiée d'environ 3 à 10 atomes de carbone, notamment une polyamine de formule (III) suivante :



dans laquelle :

n représente un nombre entier compris entre 4 et 5, et

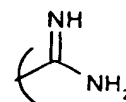
\* lorsque  $n = 4$ ,



- ..  $R_1$  et  $R_2$  représentent H,
- .. ou,  $R_1$  représente H et  $R_2$  représente  $(CH_2)_3NH_2$ ,
- .. ou,  $R_1$  et  $R_2$  représentent  $(CH_2)_3NH_2$ ,

\* lorsque  $n = 5$ ,

- ..  $R_1$  et  $R_2$  représentent H,



.. ou,  $R_1$  représente H et  $R_2$  représente un groupe de formule  
notamment une polyamine choisie parmi la cadavérine, la putrescine, la spermidine, la spermine ou l'agmatine,

pour la préparation d'un médicament destiné au traitement de pathologies  
humaines ou animales dans lesquelles sont impliqués les neurones silencieux,  
telles que les pathologies du tube digestif, de la vessie et des voies biliaires.

2. Utilisation selon la revendication 1, de composés de formule (I) dans laquelle :

- $n_1 = 1$ , et  $n_2 = 0$  ou 1,
- X représente un acide aminé choisi parmi l'ornithine, l'arginine ou la glutamine,

- Y représente un cétoacide choisi parmi l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique, ou l'acide  $\alpha$ -cétobutyrique,

- et, lorsque  $n_2 = 1$ , Z représente :

un acide aminé naturel, notamment l'ornithine, l'arginine ou la glutamine,

ou une polyamine de formule (III), telle que la cadavérine, la putrescine, la spermidine, la spermine ou l'agmatine.

3. Utilisation selon la revendication 1 ou 2, de composés de formule (I) dans laquelle :

- $n_1 = 1$ , et  $n_2 = 0$ ,
- X représente l'ornithine et Y représente l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique, à savoir l' $\alpha$ -cétoglutarate de mono-ornithine,

- X représente l'ornithine et Y représente l'acide  $\alpha$ -cétobutyrique, à savoir l' $\alpha$ -cétobutyrate de mono-ornithine.

4. Utilisation selon la revendication 1 ou 2, de composés de formule (I) dans laquelle :

- $n_1 = 1$ , et  $n_2 = 1$ ,

- X représente l'ornithine, Y représente l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique, et Z représente l'ornithine, à savoir l' $\alpha$ -cétoglutarate de di-ornithine,

- X représente l'arginine, Y représente l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique, et Z représente l'arginine, à savoir l' $\alpha$ -cétoglutarate de di-arginine,

5 - X représente l'ornithine, Y représente l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique, et Z représente la glutamine, à savoir l' $\alpha$ -cétoglutarate d'ornithine et de glutamine,

- X représente l'ornithine, Y représente l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique, et Z représente la spermidine, à savoir l' $\alpha$ -cétoglutarate d'ornithine et de spermidine.

10 5. Utilisation selon la revendication 1 ou 2, de l' $\alpha$ -cétoglutarate de di-ornithine.

6. Utilisation selon la revendication 1, de composés de formule (I) dans laquelle :

15 -  $n_1 = 0$  ou 1, et  $n_2 = 1$ ,

- lorsque  $n_1 = 1$ , X représente un aminoacide naturel, tel que l'ornithine, l'arginine ou la glutamine,

- Y représente un cétoacide choisi parmi l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique, ou l'acide  $\alpha$ -cétobutyrique,

20 - Z représente une polyamine de formule (III) susmentionnée, telle que la cadavérine, la putrescine, la spermidine, la spermine ou l'agmatine.

7. Utilisation selon la revendication 1 ou 6, du composé de formule (I) dans laquelle  $n_1 = 0$ , et  $n_2 = 1$ , Y représente l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique et Z représente la spermidine, à savoir l' $\alpha$ -cétoglutarate de spermidine

8. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 7, de composés se présentant sous forme de sels entre deux constituants X et Y, ou Y et Z, ou entre les trois constituants X, Y et Z.

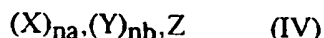
9. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 8, de composés de formule (I) au sein desquels la proportion en poids des différents constituants est de préférence comprise entre 0,8 et 1,2, de sorte que la somme des proportions de chacun des constituants est égale à 2 dans un sel entre deux constituants, ou est égale à 3 dans un sel entre deux constituants.

10. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 9, de composés de formule (I) au sein desquels les différents constituants X et Y, ou Y et Z, ou X, Y et Z sont dans un rapport équimolaire, c'est-à-dire que chacun des

constituants est dans une proportion en poids de 1, de sorte que la somme des proportions de chacun des constituants est égale à 2 dans un sel entre deux constituants X et Y, ou Y et Z, ou est égale à 3 dans un sel entre les trois constituants X, Y et Z.

5

11. Composés de formule générale (IV) suivante :



dans laquelle :

- $n_a$  et  $n_b$  représentent 0 ou 1, sous réserve que lorsque  $n_a = 0$  alors  $n_b = 1$ , et que lorsque  $n_b = 0$  alors  $n_a = 1$ ,
- X représente un aminoacide naturel, notamment un aminoacide basique tel que l'ornithine, l'arginine, la lysine, ou l'histidine,
- Y représente un cétoacide de formule (II) suivante :

15



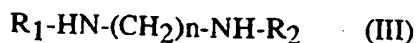
dans laquelle R représente un groupe alkyle ou acide alcanoïque, substitué ou non, d'environ 1 à environ 10 atomes de carbone, notamment un cétoacide de formule (II) dans laquelle lorsque R représente :

- $-CH_3$ , ledit cétoacide est l'acide pyruvique,
- $-CH_2-CH_3$ , ledit cétoacide est l'acide  $\alpha$ -cétobutyrique,
- $-CH(CH_3)_2$ , ledit cétoacide est l'acide  $\alpha$ -cétisovalérique,
- $-CH(CH_3)-CH_2-CH_3$ , ledit cétoacide est l'acide  $\alpha$ -cétométhylvalérique,
- $-CH_2-CH(CH_3)_2$ , ledit cétoacide est l'acide  $\alpha$ -cétoisocaproïque,
- $-(CH_2)_2-COOH$ , ledit cétoacide est l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique,
- $-(CH_2)_3-COOH$ , ledit cétoacide est l'acide  $\alpha$ -cétoadipique,

25

- Z représente une polyamine comprenant au moins deux fonctions amines primaires, secondaires ou tertiaires, espacée par une chaîne hydrocarbonée linéaire ou ramifiée d'environ 3 à 10 atomes de carbone, notamment une polyamine de formule (III) suivante :

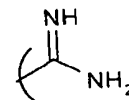
30



dans laquelle :

35

- n représente un nombre entier compris entre 4 et 5, et
  - \* lorsque  $n = 4$ ,
    - ..  $R_1$  et  $R_2$  représentent H,
    - .. ou,  $R_1$  représente H et  $R_2$  représente  $(CH_2)_3NH_2$ ,
    - .. ou,  $R_1$  et  $R_2$  représentent  $(CH_2)_3NH_2$ ,
  - \* lorsque  $n = 5$ ,
    - ..  $R_1$  et  $R_2$  représentent H,



.. ou, R<sub>1</sub> représente H et R<sub>2</sub> représente un groupe de formule  
notamment une polyamine choisie parmi la cadavérine, la putrescine, la  
spermidine, la spermine ou l'agmatine,

5 12. Composé selon la revendication 11, de formule générale (IV) dans  
laquelle  $n_a = 0$  et  $n_b = 1$ , Y représente l'acide  $\alpha$ -cétooglutarique, et Z  
représente la spermidine, à savoir l' $\alpha$ -cétooglutarate de spermidine.

10 13. Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend un  
composé selon la revendication 11 ou 12, en association avec un véhicule  
pharmaceutiquement acceptable.

**INSTITUT NATIONAL  
de la  
PROPRIETE INDUSTRIELLE**

# RAPPORT DE RECHERCHE PRELIMINAIRE

N° d'enregistrement  
national

établi sur la base des dernières revendications  
déposées avant le commencement de la recherche

FA 554641  
FR 9803155

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
A	US 4 320 146 A (WALSER) 16 mars 1982	
A	US 4 957 938 A (ANDERSON ET AL.) 2 janvier 1991	
A	US 4 734 276 A (ZIEGLER) 29 mars 1988	
D,A	FR 3 533 M (LABORATOIRES JAKES LOGEAS) 18 octobre 1965	
		<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 5px auto; width: 80%;">DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CL.6)</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 5px auto; width: 80%;">A61K</div>
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
12 novembre 1998		Klaver, T
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p><b>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</b></p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul</p> <p>Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie</p> <p>A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général</p> <p>O : divulgation non-écrite</p> <p>P : document intercalaire</p> </div> <div style="width: 45%;"> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention</p> <p>E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.</p> <p>D : cité dans la demande</p> <p>L : cité pour d'autres raisons</p> <p>.....</p> <p>&amp; : membre de la même famille, document correspondant</p> </div> </div>		

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**